

(12) NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES  
PATENTWESENS (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALE ANMELDUNG

(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum  
Internationales Büro



(43) Internationales Veröffentlichungsdatum  
24. Februar 2005 (24.02.2005)

PCT

(10) Internationale Veröffentlichungsnummer  
**WO 2005/017195 A1**

(51) Internationale Patentklassifikation<sup>7</sup>: **C12Q 1/68**

(21) Internationales Aktenzeichen: **PCT/EP2004/007434**

(22) Internationales Anmeldedatum:  
7. Juli 2004 (07.07.2004)

(25) Einreichungssprache: **Deutsch**

(26) Veröffentlichungssprache: **Deutsch**

(30) Angaben zur Priorität:  
103 32 620.0 18. Juli 2003 (18.07.2003) **DE**

(71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme  
von US): **EPPENDORF AG [DE/DE];** Barkhausenweg 1,  
22339 Hamburg (DE).

(72) Erfinder; und

(75) Erfinder/Anmelder (nur für US): **BÜLOW, Sven**  
[DE/DE]; Osterkampstieg 5, 22395 Hamburg (DE).

(74) Anwalt: **HAUSFELD, Norbert; Schaefer & Emmel,**  
Gehölzweg 20, 22043 Hamburg (DE).

(81) Bestimmungsstaaten (soweit nicht anders angegeben, für  
jede verfügbare nationale Schutzrechtsart): **AL, AG, AI, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GH, GI, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NA, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW.**

(84) Bestimmungsstaaten (soweit nicht anders angegeben, für  
jede verfügbare regionale Schutzrechtsart): **ARIPO (BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW),** eurasisches (**AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM**), europäisches (**AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IT, LU, MC, NL, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR**), OAPI (**BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG**).

Veröffentlicht:

— mit internationalem Recherchenbericht

Zur Erklärung der Zweibuchstaben-Codes und der anderen Abkürzungen wird auf die Erklärungen ("Guidance Notes on Codes and Abbreviations") am Anfang jeder regulären Ausgabe der PCT-Gazette verwiesen.

(54) Title: **METHOD FOR THE DETECTION OF BIOMOLECULES BASED ON THE REPLICATION OF BOUND NUCLEIC ACIDS**

(54) Bezeichnung: **AUF REPLIKATION VON GEBUNDENEN NUKLEINSÄUREN BASIERENDES VERFAHREN ZUM NACHWEIS VON BIOMOLEKÜLEN**

(57) Abstract: The invention relates to a method for the detection of biomolecules, whereby the molecule for detection is coupled to a first substance, part of a nucleic acid replicating unit, the biomolecule/substance complexes formed are bonded to a binding molecule specific for the said biomolecule which is bonded to a solid phase, optionally the non-bonded biomolecule/substance complexes are removed by washing, the bonded biomolecule/substance complexes are incubated with high molecular weight nucleic acid molecules and mononucleotides of various types, of which at least the mononucleotides of a species are provided with a detectable marker and a second substance which forms a functional replicating unit for high molecular weight nucleic acids together with the first substance coupled to the biomolecule, which bonds the high molecular weight nucleic acid molecules and which generates replicas of the high molecular weight nucleic acids with inclusion of marked mononucleotides which do not dissociate, optionally the high molecular weight nucleic acid molecules and mononucleotides in solution are removed by washing and the biomolecules for detection are determined by means of detection of the marked replicas.

(57) Zusammenfassung: Verfahren zum Nachweis von Biomolekülen, bei dem die nachzuweisenden Biomoleküle mit einer ersten Substanz gekoppelt werden, die Teil eines nukleinsäurereplizierenden Apparates ist, die gebildeten Biomolekül-SubstanzKomplexe an für die jeweiligen Biomoleküle spezifische, festphasengebundene Bindungsmoleküle gebunden werden, ggf. die nicht gebundenen Biomolekül-SubstanzKomplexe durch Waschen entfernt werden, die gebundenen BiomolekülSubstanz-Komplexe mit hochmolekularen Nukleinsäuremolekülen und Mononukleotiden verschiedener Spezies, von denen mindestens die Mononukleotide einer Spezies mit einer detektierbaren Markierung versehen sind, sowie einer zweiten Substanz inkubiert werden, die die an die Biomoleküle gekoppelte erste Substanz zu einem funktionsfähigen replizierenden Apparat für hochmolekulare Nukleinsäuren ergänzt, der die hochmolekularen Nukleinsäuremoleküle bindet und unter Einbau markierter Mononukleotide Replikate der hochmolekularen Nukleinsäuremoleküle erzeugt, die nicht abdissoziieren, ggf. die in Lösung befindlichen hochmolekularen Nukleinsäuremoleküle und Mononukleotide durch Waschen entfernt werden, und über den Nachweis der markierten Replikate die zu detektierenden Biomoleküle bestimmt werden.

WO 2005/017195 A1